



Fer-color

AA

Método colorimétrico direto para a determinação de ferro em soro ou plasma

SIGNIFICADO CLÍNICO

O ferro encontra-se distribuído no organismo em diferentes formas que incluem: hemoglobina, ferro tissular e mioglobina. O transporte de ferro de um órgão a outro realiza-se mediante uma proteína transportadora: a apotransferrina.

O complexo formado com o ferro é conhecido como transferrina.

A ferritina, localizada em quase todas as células do corpo, constitui uma reserva de ferro disponível para a formação da hemoglobina e outras proteínas que contêm o grupo hemo. A absorção de ferro é realizada principalmente no duodeno. Tanto a ferritina como a transferrina encontram-se nas células da mucosa intestinal e ambas regulam a absorção de ferro.

Os mais grandes desordens do metabolismo de ferro relacionam-se com a deficiência ou excesso. No entanto, observam-se alterações em muitas outras doenças como anemia, doenças cardiovasculares, hepatite crônica, doenças renais e infecções.

A anemia por perda de ferro representa um dos transtornos orgânicos mais freqüentes, principalmente em crianças, mulheres jovens, grávidas e idosos. Também constituem causas de anemia ferropênica as úlceras gástricas ou duodenais e carcinoma de estômago.

Por outra parte, o excesso de ferro associa-se com outros desordens como hemossiderose, hemocromatose e anemia sideroblástica.

FUNDAMENTO DO MÉTODO

O ferro sérico libera-se de sua ligação com sua proteína transportadora específica, a transferrina, tampão acetato de pH 4,5 e em presença de um redutor, o ácido ascórbico. Depois reage com o reagente de cor, piridil bis-fenil triazina sulfonato (ferrozina) obtendo-se um produto de cor magenta, que se mede a 560 nm.

REAGENTES FORNECIDOS

Reagente de Cor: solução estabilizada de ferrozina.

S. Padrão: solução de íons Fe (III) equivalem a 100 µg/dl.

Tampão: solução de acetato 150 mmol/l para pH 4,5 contendo guanidina.

Redutor: ácido ascórbico.

Concentrações finais

Acetato	150 mmol/l, pH 4,5
Ferrozina	0,2 mmol/l
Ácido ascórbico	0,03 mol/l
Guanidina	4,0 mol/l

REAGENTE NÃO FORNECIDO

- **Calibrador A plus** fornecido separadamente pela Wiener lab. quando seja utilizada a técnica automática.

- Água destilada.

INSTRUÇÕES DE USO

Reagente de Cor: pronto para uso.

Padrão: pronto para uso.

Tampão/Redutor: transferir ao frasco de Redutor a quantidade de Tampão indicada no rótulo. Colocar a data de preparo.

PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Reagentes Fornecidos: são estáveis a temperatura ambiente (< 25°C) até a data do vencimento indicada na embalagem.

Tampão/Redutor: é estável 3 meses a contar da data de sua preparação conservado sob refrigeração (2-10°C) ou 10 dias a temperatura ambiente (18-25°C).

INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

Variações nas leituras de Brancos de Reagentes e/ou Padrão, são indícios de contaminações ocasionais (água, material de vidro, etc.). Aumento no valor dos Brancos indicará uma contaminação com ferro.

AMOSTRA

Soro ou plasma

a) Coleta: o paciente deve estar em jejum, sendo que as extrações devem ser realizadas sempre na mesma hora (preferencialmente de manhã) já que as oscilações fisiológicas são muito importantes durante o dia.

b) Aditivos: se a amostra é plasma deverá utilizar-se heparina como anticoagulante.

c) Substâncias interferentes conhecidas: não se observa interferência pela hemoglobina até 90 mg/dl, bilirrubina até 15 mg/dl, nem heparina até 50 UI/ml.

Amostras lipêmicas podem levar a resultados errôneos.

Níveis de triglicérides de 3,72 g/l produzem interferências. Sendo que hemólises ligeiras não interferem com este método, o International Committee for Standardization in Hematology (ICSH) recomenda a utilização de soro livre de hemólise.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: o soro

e o plasma heparinizado podem ser conservados até uma semana sob refrigeração (2-10°C).

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro, fotocolorímetro ou analisador automático.
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Tubos de fotocolorímetro.

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Comprimento de onda: 560 nm em espectrofotômetro ou 540-560 nm em fotocolorímetro com filtro verde.
- Temperatura de reação: temperatura ambiente
- Tempo de reação: 5 minutos
- Volume de amostra: 200 ul
- Volume total de reação: 1,4 ml

PROCEDIMENTO

Em três tubos marcados B (Branco de Reagente), P (Padrão) e D (Desconhecido), colocar:

	B	P	D
Água bidestilada	200 ul	-	-
Padrão	-	200 ml	-
Amostra	-	-	200 ml
Tampão/Redutor	1 ml	1 ml	1 ml

Misturar. Ler a absorbância do tubo D (Branco de Soro BS) em espectrofotômetro a 560/580 nm ou em fotocolorímetro com filtro verde (540/560 nm) levando a zero o aparelho com água. Depois adicionar:

Reagente de Cor	200 ul	200 ul	200 ul
-----------------	--------	--------	--------

Misturar imediatamente. Voltar a ler cada tubo em 5 minutos, levando o aparelho a zero com água.

ESTABILIDADE DA MISTURA DE REAÇÃO FINAL

Os tubos devem ser lidos entre 5 e 60 minutos após completados os passos do procedimento.

CÁLCULOS DOS RESULTADOS

Corrigir as leituras de P e D, subtraindo os Brancos correspondentes:

P - B = P corrigido

D - (B + BS) = D corrigida

Fe (ug/dl) = D corrigida x f

onde: $f = \frac{100 \text{ ug/dl}}{P \text{ corrigido}}$

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Standartrol S-E 2 níveis.

VALORES TEÓRICOS

Homens: 65 a 175 ug/dl (11,6-31,3 umol/l)

Mulheres: 50 a 170 ug/dl (9-30,4 umol/l)

VALORES DE REFERÊNCIA

Em um grupo de 20 mulheres e 20 homens saudáveis, com idades entre os 18 e 51 anos, foram encontradas faixas de 55 a 175 ug/dl* com as seguintes médias:

Homens: 114,6 ug/dl (20,5 umol/l)

Mulheres: 103,3 ug/dl (18,5 umol/l)

*Valores de referência extraídos de arquivos da Wiener lab.

É recomendável que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- Valores de Branco aceitável: a determinação de oligoelementos compromete as possíveis contaminações de água e os reagentes. O Branco de Reagente, realizado segundo o Manual de Instruções, não deve superar 0,150 D.O. devendo ser ainda desprezível a contribuição de água no Branco. Para poder ser controlado, recomenda-se o uso de água de qualidade comprovada (condutibilidade menor a 0,02 uOhms).
- Limpeza do material: todo o material do laboratório utilizado deve estar livre de ferro, submergindo-o durante 6 horas em HCl p.a. 10-15%, eliminando a acidez com vários lavados com água livre de ferro. Enxugar o material perfeitamente à temperatura não superior a 80°C em cesto de aço inoxidável ou recoberto com plástico. Todo o material deve ser utilizado só para a determinação de ferro.

PERFORMANCE

a) **Reprodutibilidade:** processando duplicatas das mesmas amostras no mesmo dia, foram obtidos os seguintes dados:

Nível	D.P.	C.V.
146,5 ug/dl	± 1,93 ug/dl	1,32 %
324,6 ug/dl	± 1,76 ug/dl	0,54 %

Processando a mesma amostra em diferentes dias, obteve-se o seguinte:

Nível	D.S.	C.V.
142,8 ug/dl	± 2,50 ug/dl	1,75 %
314,0 ug/dl	± 3,93 ug/dl	1,25 %

b) **Recuperação:** adicionar quantidades conhecidas de Fe (II) a alíquotas de um mesmo soro, recuperou-se entre 90 e 103%.

c) **Linearidade:** a reação é linear até 1000 ug/dl.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Comprimento de onda	560 nm
Tipo de reação	ponto final
Direção de reação	crescente
Volume de amostra	30 ul
Volume de Tampão/Redutor	250 ul
Volume de Reagente de Cor	50 ul
Branco de amostra	sim
Tempo de incubação	300 segundos
Tempo de leitura	30 segundos
Absorbância do Branco	< 0,500 D.O.
Limite de absorbância	2,000 D.O.
Valor normal inferior	60 ug/dl

Valor normal superior 160 ug/dl
Linearidade ≥ 700 ug/dl
Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado. Para a calibração deve-se utilizar **Calibrador A plus** da Wiener lab., segundo os requerimentos do analisador.

APRESENTAÇÃO

- 5 x 20 ml (100 ml Tampão) (Cód. 1492003).
- 5 x 20 ml (5 x 20 ml Tampão) (Cód. 1009324).

REFERÊNCIAS

- Dixon, K. - Ann. Clin. Biochem. 10/5:127 (1973).
- I.C.S.H. - Am. J. Clin. Path. 56/4:543 (1971).
- Zak, B.; Baginski, E.S.; Epstein, E. y Wiener, L.M. - Clin. Toxicol. 4/4:621 (1971).
- Rojkin, M.L.; Olguín de Mariani, M.C.; Drappo, G.A. y Albarracín, A. - III Congreso Argentino de Bioquímica - Buenos Aires (1975).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina

864109001 / 02 Pág. 6 de 6

UR070813